

PRVPATENT- OCH REGISTRERINGSVERKET
Patentavdelningen**Intyg
Certificate**

REC'D 12 MAR 2001

WIPO

PCT



Härmed intygas att bifogade kopior överensstämmer med de handlingar som ursprungligen ingivits till Patent- och registreringsverket i nedannämnda ansökan.

This is to certify that the annexed is a true copy of the documents as originally filed with the Patent- and Registration Office in connection with the following patent application.

(71) Sökande Glycorex Transplantation AB, Lund SE
Applicant (s)

(21) Patentansökningsnummer 0002462-0
Patent application number

(86) Ingivningsdatum 2000-06-28
Date of filing

SE 01/241
EJU

Stockholm, 2001-02-23

För Patent- och registreringsverket
For the Patent- and Registration Office

Leena Ullén

Avgift
Fee

Material 2.

Nedan beskrivs material innehållande s.k. matrix till vilken bundits sackarid via en s.k. spacer.

Materiallets aktiva del enligt uppfinningen består av en sackariddel som bundits via en spacer till en Matrix enligt nedan:

Sackarid-spacer-Matrix.

Matrisen består generellt av en polymer, plast, eller polysackarid, och kan binda ett stort antal Sackarid-spacer-enheter.

Sackarid symboliserar sackarid som har en biologisk eller annan affinitet till en annan molekyl, protein eller cell. Sackarid kan bestå av ett glykoprotein, en glykopeptid eller en glykosylerad aminosyra, en glykolipid, eller en del, ett fragment eller modifierad variant därav, eller en annan biologiskt aktiv di- eller trisackarid eller högre oligosackaridsubstans.

Nedan ges några icke-begränsande exempel på biologiskt aktiva sackarider, spacer och Matrix som kan användas enligt uppfinningen.

Materiallets aktiva del består av exempelvis antingen:

1. Blodgrupp A-O(CH₂)_nPhNH-CO-(CH₂)_mNH-CH₂-CH(OH)-CH₂-O-Matrix

eller:

2. Blodgrupp B-O(CH₂)_nPhNH-CO-(CH₂)_mNH-CH₂-CH(OH)-CH₂-O-Matrix

där Matrix avser t.ex. speciellt tvärbunden agarose, speciellt av typen Sepharos[®] Fast Flow, där -O(CH₂)_nPhNH-CO-(CH₂)_mNH-CH₂-CH(OH)-CH₂- utgörs av spacer för att separera blodgruppsdeterminanten från Matrix, där n respektive m är ett heltal, n är exempelvis någon av 0, 1, 2, 3 eller 4 och m är exempelvis 1, 2, 3, 4, 5, 6 eller 7, och där bindningen mellan -O- och Matrix sker till en kolatom i Matrix.

Blodgrupp A-O(CH₂)_nPhNH-CO-(CH₂)_mNH-, respektive

Blodgrupp B-O(CH₂)_nPhNH-CO-(CH₂)_mNH- kallas nedan för ligand(en).

Matrix har ett stort antal molekyler av ligand bundet. Exempel på bunden mängd av ligand är 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 mmol per liter Matrix, eller ett antal mmol som hamnar mellan två av angivna värden per liter Matrix.

Exempel på produkt 1 är:

a. GalNAcα1-3(Fucα1-2)Galβ-O(CH₂)₂PhNH-CO-(CH₂)₅NH-CH₂-CH(OH)-CH₂-O-Matrix

Andra exempel utgörs exempelvis av produkt innehållande en p.s.s. bunden högre oligosackarid som innehåller A-determinanten terminalt, exempelvis av A-determinant av typ 1, 2, 3 eller 4. Ytterligare exempel på produkt 1 är material där en kombination av a. och någon eller några av nämnda blodgrupp A-varianter, är bundna via samma typ av spacer som ovan till Matrix.

Exempel på produkt 2 är:

b. Galα1-3(Fucα1-2)Galβ-O(CH₂)₂PhNH-CO-(CH₂)₅NH-CH₂-CH(OH)-CH₂-O-Matrix

Andra exempel utgörs exempelvis av produkt innehållande en p.s.s. bunden högre oligosackarid som innehåller B-determinanten terminalt, exempelvis av B-determinant av typ 1, 2, 3 eller 4. Ytterligare exempel på produkt 2 är material där en kombination av b. och någon eller några av nämnda blodgrupp B-varianter, är bundna via samma typ av spacer som ovan till Matrix.

I en variant innehåller produkten dessutom struktur enligt nedan:

(HOCH₂)₃C-NH-CO-(CH₂)₅NH-CH₂-CH(OH)-CH₂-O-Matrix

där (HOCH₂)₃C-NH- utgör en s.k. Tris-grupp.

Vid framställningen av produkten kan exempelvis användas kommersiellt tillgänglig

aktiverad Matris, t.ex. s.k. NHS-aktiverad Sepharos^R 4 Fast Flow (NHS- är en förkortning av N-hydroxysuccinimid; denna variant av agarose är relativt kraftigt tvärbunden, kommersiellt tillgänglig), som föreligger som partiklar i sfärisk form. Partikelstorleken väljs i exempelvis intervallet 45 - 165 µm. Denna aktiverade Matris kan användas för kovalent bindning av

Blodgrupp A-O(CH₂)_nPhNH₂-, respektive

Blodgrupp B-O(CH₂)_nPhNH₂-, vid, som icke-begränsande typexempel, pH 7.5 eller 8.0 i buffert, exempelvis 0.1 M natriumfosfat som icke-begränsande exempel, under exempelvis 1, eller 2 timmar eller under 20 timmar, och i exemplet vid rumstemperatur. Materialet tvättas exempelvis på glasfilter eller under andra sterila förhållanden med exempelvis buffert och behandlas med exempelvis Tris-HCl buffert för att reagera kvarvarande reaktiva grupper.

Vid framställningen av produkten kan som ett annat exempel användas s.k. epoxy-aktiverad Sepharose 4 Fast Flow till vilken kovalent binds

Blodgrupp A-O(CH₂)_nPhNH-CO-(CH₂)_mNH-, eller till vilken kovalent binds:

Blodgrupp B-O(CH₂)_nPhNH-CO-(CH₂)_mNH-,

där n och m är specificerade ovan liksom Blodgrupp A respektive Blodgrupp B.

Produkterna kan användas för exempelvis extrakorporalt borttagande av blodgrupp A- respektive blodgrupp B-antikroppar, t.ex. för blodrening, eller t.ex. inför en transplantation över den s.k. blodgruppsbarriären. Produkten kan för detta ändamål packas i ett kolonnhus med in- och utflöde för passage av t.ex. blodplasma eller helblod.

Andra icke-begränsande exempel på Sackarid enligt de specifika exemplen 1 och 2 ovan, är strukturer där sackariddelen består av Galα1-3Galα-, Galα1-3Galβ-,

Galα1-3Galβ1-4Glcβ-, Galα1-3Galβ1-4GlcNAcβ-,

Galα1-3Galβ1-4GlcNAcβ1-3Galβ1-4Glcβ-,

respektive oligomera ligander som exempelvis

(Galα1-3Galα-)n-, (Galα1-3Galβ-)n-,

(Galα1-3Galβ1-4Glcβ-)n-, (Galα1-3Galβ1-4GlcNAcβ-)n-,

(Galα1-3Galβ1-4GlcNAcβ1-3Galβ1-4Glcβ-)n-, eller (Galα1-3Galα-spacer)n-,

(Galα1-3Galβ-spacer)n-, (Galα1-3Galβ1-4Glcβ-spacer)n-,

(Galα1-3Galβ1-4GlcNAcβ-spacer)n-,

(Gal α 1-3Gal β 1-4GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc β -spacer) n -, där n är ett heltal större än 1.
Spacer kan varieras, väljes av fackmannen och begränsar inte uppfinningens omfattning.

Produkten tillåter kombinationen ett högt flöde (t.ex. i intervallet 20-60 ml/min), minimalt tryckfall samt god bindningskapacitet även av molekylärt större antikroppstyper som IgM. Som ett icke-begränsande exempel kan nämnas att singelpassage av mer än en liter blodgrupp A plasma med ett flöde av ca 40 ml/min genom en kolonn med en produktvolym i kolonnen av 62 ml, och en medelpartikelstorlek av 90 μ m, praktiskt taget eliminerade samtliga antikroppar gentemot blodgrupp A. Liknande resultat erhöles med Blodgrupp B produkt. Produkten var uppbyggd enligt ovan från Sepharose^R 4 Fast Flow

En eller flera kolonner kan användas. Kolonnvolymen väljs för ändamålet och kan till exempel vara av en storlek av exempelvis 50 ml upp till en storlek av exempelvis 200 ml. Olika typer av kolonnhus av olika dimension kan användas. Produkten fungerar som icke begränsande exempel i den typ av kolonnhus med dimensioner som används för produkten ImmunoSorba^R, (vilken har protein A som ligand bunden till Matrix), som har en innervolymen mellan de porösa membranerna av ca 62 ml (dvs tillåter fyllning med 62 ml Material enligt uppfinningen).

Vid användning av Produkter enligt uppfinningen för rening av plasma, kan generellt användas membran av mindre porositet och partikelstorlek av Matrix som är mindre än i fallet applikation av Produkterna för helblodsbehandling. Exempelvis kan vid plasmabehandling användas membran med porositet av t.ex. 30 mikrometer, eller membran med en porositet i intervallet 20 till 40 mikrometer och partikelstorlek på Matrix av t.ex. 90 mikrometer eller i Matrix i intervallet 40 - 200 mikrometer. Vid användning av Produkter enligt uppfinningen för rening av helblod, kan användas membran exempelvis med porositet av t.ex. 30 mikrometer eller 70 mikrometer, eller membran med en porositet i intervallet 20 till 100 mikrometer och partikelstorlek på Matrix av t.ex. 150 mikrometer eller i Matrix i intervallet 100 - 250 mikrometer.

Kolonnhus helt eller delvis fyllt med packat material enligt uppfinningen, kan till exempel vara konstruerat för att tillåta autoklavering och/eller exempelvis för att tillåta aseptisk packning av Materialet enligt uppfinningen.

icke-begränsande exempel på autoklaverbart kolonnhus är ett kolonnhus med två lock, båda försedda med t.ex. identiska gängor, vilka skruvas med hjälp av gängorna utanför och till båda ändarna av ett cylinderhus med till locken matchande gängor i de två ändarna av cylinderhuset. Mellan varje lock och cylinderhuset sätts ett poröst membran (dvs totalt två membran) som kan släppa igenom plasma eller helblod men inte material enligt uppfinningen. Varje membran sätts mellan cylindern och varje lock exempelvis med hjälp av en ihålig silikonring av ungefär samma eller samma diameter som cylindern. Varje silikonring har exempelvis en skåra som tillåter inpassning av det cirkulära membranet i skåran i silikonringen. Membranet monteras i silikonringen och placeras mellan lock och cylinderände, varefter locket skruvas på cylindern och silikonringen med membranet försluts därmed mellan lock och cylinder. Samma sak görs för den andra änden av cylindern. Varje lock har ett centralt placerat hål med en upphöjning som tillåter montering av en biokompatibel och autoklaverbar slangats försedd med anslutningar av t.ex. Luertyp.

Istället för anslutning av locken till cylindern med hjälp av gängor, kan användas exempelvis en snäppmekanism, där locken är försedda med snäppen och cylindern är försedd med från utsidan av cylindern utskjutande kanter placerade en bit från toppen respektive botten av cylindern. På detta sätt kan silikonring med membran enligt ovan placeras mellan respektive lock och respektive cylinderände, varefter locket trycks på cylindern, snäppena trycks under de utskjutande kanterna på cylindern och fastnar där, och silikonringen med membranet försluts därmed mellan lock och cylinder.

För att kunna fylla de så monterade kolonnhusen med materialet enligt uppfinningen, har cylinderdelen av kolonnhuset en cirkulär öppning med en upphöjning med gängor på utsidan av cylindern för att tillåta anslutning av en slang vid fyllning av materialet. Efter fyllning av materialet i kolonnhuset, sätts en biokompatibel plugg med gängor som passar till gängorna på upphöjningen på cylindern. I centrum av pluggen finns en utskjutande tapp som passar inne i det cirkulära hålet på cylindern och som har en längd som motsvarar höjden på upphöjningen. På detta sätt uppnås en (nästan) slät yta inne i kolonnhuset vid den cirkulära öppningen.

Alla nämnda komponenter av kolonnhuset i exempel med autoklaverbart kolonnhus, är

Kolonnhus helt eller delvis fyllt med Material enligt uppfinningen och försett med ovan nämnt slutet slangset och plugg, kan autoklaveras. Detta underlättar enligt uppfinningen uppnående av sterilitet hos produkter erhållna enligt uppfinningen. Med tidigare metoder har steril (aseptisk) fyllning utförts vilket är svårt att uppnå.

2000-06-28

Huvudfaxen Kassin

2000-06-28

Huyudfoxen Kassan

1. Material karakteriserat av att materialet innehåller minst en biologiskt aktiv sackarid som är bunden kovalent via en spacer till tvärbunden matris.
2. Material enligt krav 1, som behandlats med autoklivering.
3. Material enligt krav 1, helt eller delvis fyllt i en autoklaverbar kolonn bestående av biokompatibla material.
4. Kolonn enligt krav 3 som behandlats med autoklivering.
5. Användning av någon av produkterna nämnda i krav 1 - 4.

2000 -06- 2 8

Huvudfaxen Kassan

Material karakteriserat av att materialet innehåller minst en biologiskt aktiv sackarid som är kovalent bunden via minst en spacer till tvärbunden matris.

PRV

PATENT- OCH REGISTRERINGSVERKET
Patentavdelningen

PCT/SE 01 / 0 0 2 4 1

REC'D 12 MAR 2001

WIPO

PCT

Intyg Certificate



Härmed intygas att bifogade kopior överensstämmer med de handlingar som ursprungligen ingivits till Patent- och registreringsverket i nedannämnda ansökan.

This is to certify that the annexed is a true copy of the documents as originally filed with the Patent- and Registration Office in connection with the following patent application.

SE01/241

(71) Sökande Glycorex Transplantation AB, Lund SE
Applicant (s)

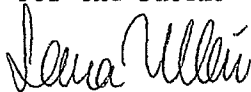
EJU

(21) Patentansökningsnummer 0000430-9
Patent application number

(86) Ingivningsdatum 2000-02-08
Date of filing

Stockholm, 2001-02-23

För Patent- och registreringsverket
For the Patent- and Registration Office


Leena Ullén

Avgift
Fee

PRIORITY DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

PATENT- OCH
REGISTRERINGSVERKET
SWEDEN

Postadress/Address
Box 5055
S-102 42 STOCKHOLM

Telefon/Phone
+46 8 782 25 00
Vx 08-782 25 00

Telex
17978
PATOREG S

Telefax
+46 8 666 02 88
08-666 02 88

Ink. t. Patent- och reg.verket 46 46 185781

2000-02-08

1(3).

Material. Huvudfaxen Kassan

Nedan beskrivs material innehållande s.k. matrix till vilken bundits sackarid via en s.k. spacer.

Materialets aktiva del består av antingen:

1. Blodgrupp A-O(CH₂)_nPhNH-CO-(CH₂)_mNH-CH₂-CH(OH)-CH₂-O-Matrix

eller:

2. Blodgrupp B-O(CH₂)_nPhNH-CO-(CH₂)_mNH-CH₂-CH(OH)-CH₂-O-Matrix

där Matrix avser t.ex. speciellt tvärbunden agarose, speciellt av typen Sepharos^R Fast Flow, där -O(CH₂)_nPhNH-CO-(CH₂)_mNH-CH₂-CH(OH)-CH₂- utgörs av spacer för att separera blodgruppsdeterminanten från Matrix, där n respektive m är ett heltal, n är exempelvis någon av 0, 1, 2, 3 eller 4 och m är exempelvis 1, 2, 3, 4, 5, 6 eller 7, och där bindningen mellan -O- och Matrix sker till en kolatom i Matrix.

Blodgrupp A-O(CH₂)_nPhNH-CO-(CH₂)_mNH-, respektive

Blodgrupp B-O(CH₂)_nPhNH-CO-(CH₂)_mNH- kallas nedan för ligand(en).

Matrix har ett stort antal molekyler av ligand bundet. Exempel på bunden mängd av ligand är 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 mmol per liter Matrix, eller ett antal mmol som hamnar mellan två av angivna värden per liter Matrix.

Exempel på produkt 1 är:

a. GalNAcα1-3(Fucα1-2)Galβ-O(CH₂)₂PhNH-CO-(CH₂)₅NH-CH₂-CH(OH)-CH₂-O-Matrix

Andra exempel utgörs exempelvis av produkt innehållande en p.s.s. bunden högre oligosackarid som innehåller A-determinanten terminalt, exempelvis av A-determinant av typ 1, 2, 3 eller 4. Ytterligare exempel på produkt 1 är material där en kombination av a. och någon eller några av nämnda blodgrupp A-varianter, är bundna via samma typ av spacer som ovan till Matrix.

Ink. t. Patent- och reg.verket

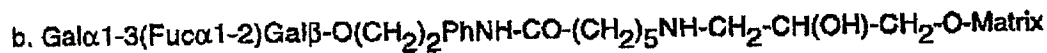
46 46 185781

2000-02-08

2(3)-

Huvudfaxen Kassan

Exempel på produkt 2 är:



Andra exempel utgörs exempelvis av produkt innehållande en p.s.s. bunden högre oligosackarid som innehåller B-determinanten terminalt, exempelvis av B-determinant av typ 1, 2, 3 eller 4. Ytterligare exempel på produkt 2 är material där en kombination av b. och någon eller några av nämnda blodgrupp B-varianter, är bundna via samma typ av spacer som ovan till Matrix.

I en variant innehåller produkten dessutom struktur enligt nedan:



där $(\text{HOCH}_2)_3\text{C-NH-}$ utgör en s.k. Tris-grupp.

Vid framställningen av produkten kan exempelvis användas kommersiellt tillgänglig aktiverad Matrix, t.ex. s.k. NHS-aktiverad Sepharos^R 4 Fast Flow (NHS- är en förkortning av N-hydroxysuccinimid; denna variant av agarose är relativt kraftigt tvärbunden, kommersiellt tillgänglig), som föreligger som partiklar i sfärisk form. Partikelstorleken väljs i exempelvis intervallet 45 - 165 μm . Denna aktiverade Matrix kan användas för kovalent bindning av

Blodgrupp A- $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{PhNH}_2$ -, respektive

Blodgrupp B- $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{PhNH}_2$ -, vid, som icke-begränsande typexempel, pH 7.5 eller 8.0 i buffert, exempelvis 0.1 M natriumfosfat som icke-begränsande exempel, under exempelvis 1, eller 2 timmar eller under 20 timmar, och i exemplet vid rumstemperatur. Materialet tvättas exempelvis på glasfilter eller under andra sterila förhållanden med exempelvis buffert och behandlas med exempelvis Tris-HCl buffert för att reagera kvarvarande reaktiva grupper.

Vid framställningen av produkten kan som ett annat exempel användas s.k. epoxy-aktiverad Sepharose 4 Fast Flow till vilken kovalent binds

Blodgrupp A- $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{PhNH-CO}(\text{CH}_2)_m\text{NH-}$, eller till vilken kovalent binds:

2000-02-08

3(3).

Huvudfoxen Kossan

Blodgrupp B-O(CH₂)_nPhNH-CO-(CH₂)_mNH-

där n och m är specificerade ovan liksom Blodgrupp A respektive Blodgrupp B.

Produkterna kan användas för exempelvis extrakorporalt borttagande av blodgrupp A- respektive blodgrupp B-antikroppar, t.ex. för blodrening, eller t.ex. inför en transplantation över den s.k. blodgruppsbarriären. Produkten kan för detta ändamål packas i ett kolonnhus med in- och utflöde för passage av t.ex. blodplasma eller helblod.

Produkten tillåter kombinationen ett högt flöde (t.ex. i intervallet 20-60 ml/min), minimalt tryckfall samt god bindningskapacitet även av molekylärt större antikroppstyper som IgM. Som ett icke-begränsande exempel kan nämnas att singelpassage av mer än en liter blodgrupp A plasma med ett flöde av ca 40 ml/min genom en kolonn med en produkt-volym i kolonnen av 62 ml, och en medelpartikelstorlek av 90 µm, praktiskt taget eliminerade samtliga antikroppar gentemot blodgrupp A. Liknande resultat erhöles med Blodgrupp B produkt. Produkten var uppbyggd enligt ovan från Sepharose^R 4 Fast Flow. Olika typer av kolonnhus kan användas. Produkten fungerar bra i exempelvis den typ av kolonnhus som används för produkten ImmunoSorba^R.

Kolonnhuset med packad gel kan till exempel vara konstruerat för att tillåta autoklavering eller exempelvis för att tillåta aseptisk packning. En eller flera kolonner kan användas. Kolonnvolymen väljs för ändamålet och kan till exempel vara av en storlek av exempelvis 50 ml upp till en storlek av exempelvis 200 ml.

2000-04-06

Huvudfaxen Kassa

Patentkrav.

1. Material karakteriserat av att materialet innehåller minst en biologiskt aktiv di- eller trisackarid eller högre oligosackaridssubstans som är bunden kovalent via en spacer till tvärbunden agaros.

2000-04-06

Huvudfaxen Kossan

Sammanfattning.

Material karakteriserat av att materialet innehåller minst en biologiskt aktiv di-, tri-, och/eller högre oligosackaridssubstans som är kovalent bunden via minst en spacer till tvärbunden agaros.

PRVPATENT- OCH REGISTRERINGSVERKET
Patentavdelningen

REC'D 12 MAR 2001

WIPO

PCT

**Intyg
Certificate**

Härmed intygas att bifogade kopior överensstämmer med de handlingar som ursprungligen ingivits till Patent- och registreringsverket i nedannämnda ansökan.

This is to certify that the annexed is a true copy of the documents as originally filed with the Patent- and Registration Office in connection with the following patent application.



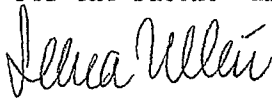
(71) Sökande Glycorex Transplantation AB, Lund SE
Applicant (s)

(21) Patentansökningsnummer 0004343-0
Patent application number

(86) Ingivningsdatum 2000-11-24
Date of filing

Stockholm, 2001-02-23

För Patent- och registreringsverket
For the Patent- and Registration Office


Leena Ullén

Avgift
Fee

SE 01/241

EJU

**PATENT- OCH
REGISTRERINGSVERKET
SWEDEN**Postadress/Adress
Box 5055
S-102 42 STOCKHOLMTelefon/Phone
+46 8 782 25 00
Vx 08-782 25 00Telex
17978
PATOREG STelefax
+46 8 666 02 86
08-666 02 86

Material.

Nedan beskrivs material innehållande s.k. matris till vilken bundits sackarid via en s.k. spacer.

Materialets aktiva del enligt uppfinningen består av minst en sackariddel som bundits via en spacer till en Matris enligt nedan:

Sackarid-spacer-Matris.

Matrisen består generellt av en polymer, plast, eller polysackarid, och kan binda ett stort antal Sackarid-spacer-enheter.

Sackarid symboliserar sackarid som har en biologisk eller annan affinitet till en annan molekyl, protein eller cell. Sackarid kan bestå av ett glykoprotein, ett neoglykoprotein, en glykopeptid eller en glykosylerad aminosyra, en glykolipid, eller en del, ett fragment eller modifierad variant därav, eller en annan biologiskt aktiv di- eller trisackarid eller högre oligosackaridsubstans.

Nedan ges några icke-begränsande exempel på biologiskt aktiva sackarider, spacer och Matris som kan användas enligt uppfinningen.

Materialets aktiva del består som icke-begränsande exempel, av exempelvis antingen:

1. Blodgrupp A-O(CH₂)_nPhNH-CO-(CH₂)_mNH-CH₂-CH(OH)-CH₂-O-Matris

eller:

2. Blodgrupp B-O(CH₂)_nPhNH-CO-(CH₂)_mNH-CH₂-CH(OH)-CH₂-O-Matris

där Matris avser t.ex. speciellt tvärbunden agarose, speciellt av typen Sepharose^R Fast Flow, där -O(CH₂)_nPhNH-CO-(CH₂)_mNH-CH₂-CH(OH)-CH₂- utgörs av spacer för att separera blodgruppsdeterminanten A- respektive B- från Matris, där n respektive m är ett heltal, n är exempelvis någon av 0, 1, 2, 3 eller 4 och m är exempelvis 1, 2, 3, 4, 5, 6 eller 7, och där bindningen mellan -O- och Matris sker till en kolatom i Matris.

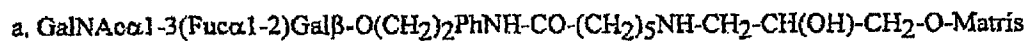
Sackarid-spacer, exempelvis Blodgrupp A-O(CH₂)_nPhNH-CO-(CH₂)_mNH-, respektive Blodgrupp B-O(CH₂)_nPhNH-CO-(CH₂)_mNH-, kallas nedan för ligand(en).

2.

Matris har ett stort antal molekyler av ligand bundet. Exempel på bunden mängd av ligand är 0.01, 0.1, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 mmol per liter Matris, eller ett antal mmol som hamnar mellan två av angivna värden per liter Matris. Per liter Matris innebär här den volym som den för användning färdiga Matrisprodukten upptar.

En kombination av två eller flera olika sackarider kan användas enligt uppfinningen, t.ex. som icke-begränsande exempel, en kombination av Blodgrupp A-O(CH₂)_nPhNH-CO-(CH₂)_mNH-, respektive Blodgrupp B-O(CH₂)_nPhNH-CO-(CH₂)_mNH- båda liganderna i detta exempel bundna till Matris.

Icke-begränsande exempel på produkt 1 är:



Andra exempel utgörs exempelvis av produkt innehållande en p.s.s. bunden högre oligosackarid som innehåller A-determinanten terminalt, exempelvis av A-determinant av typ 1, 2, 3 eller 4. Ytterligare exempel på produkt 1 är Produkt där en kombination av a. och någon eller några av nämnda blodgrupp A-varianter, är bundna via samma typ av spacer som ovan till Matris, eller via olika typ av spacer.

Icke-begränsande exempel på produkt 2 är:



Andra exempel utgörs exempelvis av produkt innehållande en p.s.s. bunden högre oligosackarid som innehåller B-determinanten terminalt, exempelvis av B-determinant av typ 1, 2, 3 eller 4. Ytterligare exempel på produkt 2 är material där en kombination av b. och någon eller några av nämnda blodgrupp B-varianter, är bundna via samma typ av spacer som ovan till Matris, eller via olika typ av spacer.

Istället för -O(CH₂)₂PhNH- gruppen i formlerna ovan kan annan lämplig Spacer eller del av Spacer användas som exempelvis -O(CH₂)_nNH- (n är ett heltal exempelvis 1, 2, 3, 4, 5, 6, eller 7) eller annan alifatisk förening, eller en annan aromatisk förening. Blodgrupp A- eller B-determinanten kan även vara bunden till en oligomer substans som Spacer eller del av Spacer.

3.

som exempelvis en peptid, exempelvis en peptid bestående av sinsemellan amidbundna glycin- och glutaminsyra-enheter, exempelvis $\text{gly}-(\text{glu-gly})_n\text{-glu}$ där n är ett heltal mellan exempelvis 1 och 20. Bindningen mellan peptiden och sackariden kan då vara exempelvis via $-\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{PhNH-}$ gruppen i formlerna ovan eller exempelvis $-\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{NH-}$, där NH- delen bundits till karboxylgruppen på sidokedjan på glu-resterna i peptiden via en NH-CO- (amid) bindning. $-\text{O}$ i $-\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{PhNH-}$ respektive i $-\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{NH-}$, är då bunden glykosidiskt till

Sackariden.

Peptiden kan ha kopplats till exempelvis NHS-aktiverad Sepharose FF via α -amino-gruppen på peptiden och därefter kan sackariden bindas via $-\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{PhNH-}$ eller exempelvis $-\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{NH-}$ till karboxylgruppen på glu-resterna i peptiden. Denna bindning mellan sackarid och glu-rester kan åstadkommas mha t.ex. karbodiimidmedierad koppling eller mha t.ex. succinimidmedierad koppling. Ett annat exempel på peptid är som ovan men innehållande minst en lysinrest, där ϵ -aminogruppen i peptiden används för kovalent koppling till exempelvis NHS-aktiverad Sepharose med åtföljande koppling till uppbunden peptid av exempelvis Sackarid- $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{PhNH-}$ eller exempelvis sackarid- $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{NH-}$ till peptiden enligt ovan. Andra bindningar kan förekomma enligt uppfinningen.

Som annat icke-begränsande exempel av peptid kan nämnas peptid bestående av sinsemellan amidbundna glycin- och lysin-enheter, exempelvis $\text{gly}-(\text{lys-gly})_n\text{-gly}$ där n är ett heltal mellan exempelvis 1 och 20. I detta fall kan exempelvis peptid bindas till Sackariden via aminogrupperna på peptiden, en N-glykosidisk bindning uppstår mellan den reducerande änden på sackariden och epsilon-aminogruppen på lysinresten(erna) och Sackarid-peptiden kan kopplas till Matrisen via exempelvis terminala COO-gruppen på peptiden och aminogrupper på Matrisen (mha exempelvis karbodiimid eller succinimidkoppling). P.s.s som för gly-glu-peptiden ovan kan även en alifatisk eller aromatisk spacer användas för att binda Sackariden till peptidens lysingrunder, men i detta fall används exempelvis grupper av typen glykosidiskt bunden $-\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{PhCOO-}$, eller exempelvis $-\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{COO-}$, för karbodiimid- eller succinimidmedierad koppling mellan Sackarid och lysinrester på peptiden.

Kopplingen till peptiden kan även genomföras genom att Sackariddelen först kopplas till aminosyran och därefter formas peptidbindningarna.

4.

Ytterligare exempel på Ligand enligt uppfinningen är att använda ett protein eller en polysackarid som Spacer eller del av Spacer mellan Sackarid och Matris. Härvid används exempelvis ett protein, som exempelvis serum albumin, eller en polysackarid, som exempelvis dextran. Sackariden kopplas då exempelvis först till proteinet, eller polysackariden, som i sin tur kopplas till Matrisen. Samma typ av kemi som angivits ovan kan, som icke-begränsande exempel, användas för att åstadkomma bindningarna mellan sackarid, protein eller polysackarid, och Matris.

Att använda sig av peptid, protein eller polysackarid enligt vad som angivits ovan kan vara en fördel i vissa fall för att öka förmågan att binda protein till sackarid och därmed öka effektiviteten på produkten enligt uppfinningen.

I en variant innehåller produkten dessutom struktur enligt nedan:

$(\text{HOCH}_2)_3\text{C-NH-CO-(CH}_2)_5\text{NH-CH}_2\text{-CH(OH)-CH}_2\text{-O-Matris}$

där $(\text{HOCH}_2)_3\text{C-NH-}$ utgör en s.k. Tris-grupp.

Vid framställningen av produkten kan exempelvis användas kommersiellt tillgänglig aktiverad Matris, t.ex. s.k. NHS-aktiverad Sepharose^R 4 Fast Flow (NHS- är en förkortning av N-hydroxysuccinimid; denna variant av agaros är relativt kraftigt tvärbunden, kommersiellt tillgänglig), som föreligger som partiklar i sfärisk form. Partikelstorleken väljs i exempelvis intervallet 45 - 165 µm. Denna aktiverade Matris kan användas för kovalent bindning av exempelvis Blodgrupp A- $\text{O(CH}_2)_n\text{PhNH}_2$ -, respektive Blodgrupp B- $\text{O(CH}_2)_n\text{PhNH}_2$ -, vid, som icke-begränsande typexempel, pH 7.5 eller 8.0 i buffert, exempelvis 0.1 M natriumfosfat som icke-begränsande exempel, under exempelvis 1, eller 2 timmar eller under 20 timmar, och i exemplet vid rumstemperatur. Materialet tvättas exempelvis på glasfilter eller under andra förhållanden, t.ex. sterila förhållanden, med exempelvis buffert och behandlas med exempelvis Tris-HCl buffert för att reagera kvarvarande reaktiva grupper.

5.

Vid framställningen av produkten kan som ett annat exempel användas s.k. epoxy-aktiverad Sepharose 4 Fast Flow till vilken kovalent binds exempelvis

Blodgrupp A-O(CH₂)_nPhNH-CO-(CH₂)_mNH-, eller till vilken kovalent binds:

Blodgrupp B-O(CH₂)_nPhNH-CO-(CH₂)_mNH-, där n och m är specificerade ovan liksom Blodgrupp

A respektive Blodgrupp B.

Som nämnts ovan kan även en kombination av liganderna kovalent bindas till Matrisen.

Produkterna kan användas för exempelvis extrakorporalt borttagande av blodgrupp A- respektive blodgrupp B-antikroppar, t.ex. för blodrening, eller t.ex. inför en transplantation t.ex. över den s.k. blodgruppsbarriären. Produkten kan även användas mer allmänt för olika typer av transplantationer som en del av behandlingen före och under samt eventuellt efter transplantationen. Detta t.ex. för att slippa ta hänsyn till blodgrupp hos donator respektive mottagare. Produkten kan för detta ändamål packas i ett kolonnhus med in- och utflöde för passage genom kolonnen av t.ex. blodplasma eller helblod från patienten som skall och/eller transplanteras. Produktens användning är således inte begränsad till exempelvis blodgruppsinkompatibel transplantation, utan kan användas för exempelvis för blodgruppskompatibel transplantation för att minska problem med donator och mottagare av samma blodgrupp men av olika subgrupper, t.ex. A1, A2 etc.

Andra icke-begränsande exempel på Sackarid enligt de specifika exemplen 1 och 2 ovan, är strukturer där sackariddelen består av Galα1-3Galα-, Galα1-3Galβ-, Galα1-3Galβ1-4Glcβ-,

Galα1-3Galβ1-4GlcNAcβ-, Galα1-3Galβ1-4GlcNAcβ1-3Galβ1-4Glcβ-,

respektive oligomera ligander som exempelvis (Galα1-3Galα-)n-, (Galα1-3Galβ-)n-,

(Galα1-3Galβ1-4Glcβ-)n-, (Galα1-3Galβ1-4GlcNAcβ-)n-,

(Galα1-3Galβ1-4GlcNAcβ1-3Galβ1-4Glcβ-)n-, eller (Galα1-3Galα- spacer)n-,

(Galα1-3Galβ-spacer)n-, (Galα1-3Galβ1-4Glcβ-spacer)n-,

(Galα1-3Galβ1-4GlcNAcβ-spacer)n-,

(Galα1-3Galβ1-4GlcNAcβ1-3Galβ1-4Glcβ-spacer)n-, där n är ett heltal större än 1.

Spacer kan varieras, väljes av fackmannen och begränsar inte uppfinningens omfattning. Icke-begränsande exempel på spacer har angivits ovan vid blodgrupp A- respektive B.

6.

Dessa strukturer kan vara av intresse att använda t.ex. i en kolonn, t.ex. före och efter xenotransplantationer för att reducera s.k. xeno-antikroppar från patientens blod (helblodskolonn) eller plasma.

Andra kolhydratstrukturer mot andra antikroppar, t.ex. antikroppar mot cancerantigen, t.ex. prostata-, bröst-, tarm- eller hudcancer, kan användas för att bilda Produkt enligt uppfinningen. Detta kan vara av intresse t.ex. för att upprena antikroppar från blod eller plasma mot nämnda antigen och efter eluering från Produkten använda vid behandling av nämnda cancersjukdomar eller för att producera reagens, eller t.ex. för att ta bort överskott av antikroppsderivat från blod eller plasma vid immunoterapi av cancersjukdomar. Andra kolhydratstrukturer specifika för exempelvis toxiner, virus och/eller bakterier, kan också användas för att bilda Produkt enligt uppfinningen. Dessa produkter kan användas för att t.ex. rena/eliminera virus och/eller bakterier från exempelvis helblod eller plasma eller från andra material, t.ex. livsmedel eller vatten.

En kombination av två eller flera olika ligander (Sackarid-spacer) bundna till Matris, kan användas i Produkten enligt uppfinningen. Sackariderna kan då vara olika, och/eller spaceren kan vara olika.

Produkten enligt uppfinningen tillåter exempelvis kombinationen ett högt flöde (t.ex. i intervallet 20-60 ml/min), minimalt tryckfall samt god bindningskapacitet även av molekylärt större antikroppstyper som IgM. Som ett icke-begränsande exempel kan nämnas att singelpassage av mer än en liter blodgrupp A plasma med ett flöde av ca 40 ml/min genom en kolonn med en produktvolym i kolonnen av 62 ml, och en medelpartikelstorlek av 90 µm, praktiskt taget eliminerade samtliga antikroppar gentemot blodgrupp A. Liknande resultat erhöles med Blodgrupp B produkt. Produkten var uppbyggd enligt ovan från Sepharose^R 4 Fast Flow.

En eller flera kolonner kan användas. Kolonnvolymen väljs för ändamålet och kan till exempel vara av en storlek av exempelvis 10 ml, 20 ml, 40 ml, 60 ml upp till en storlek av exempelvis 200 ml.

Kolonnvolymen kan exempelvis vara mellan angivna värden. Olika typer av kolonnhus av olika

7.

dimension kan användas. Produkten fungerar som icke begränsande exempel i den typ av kolonnhus med dimensioner som används för produkten ImmunoSorba^R, (vilken har protein A som ligand bunden till Matris), som har en innervolymen mellan de porösa membranerna av ca 62 ml (dvs tillåter fyllning med 62 ml Material enligt uppfinningen).

Vid användning av Produkter enligt uppfinningen för rening av plasma, kan generellt användas membran av mindre porositet och partikelstorlek av Matris som är mindre än i fallet applikation av Produkterna för helblodsbehandling. Exempelvis kan vid plasmabehandling användas membran med porositet av t.ex. 30 mikrometer, eller membran med en porositet i intervallet 20 till 40 mikrometer och partikelstorlek på Matris av t.ex. 90 mikrometer eller i Matris i intervallet 40 - 200 mikrometer. Vid användning av Produkter enligt uppfinningen för rening av helblod, kan användas membran exempelvis med porositet av t.ex. 30 mikrometer eller 70 mikrometer, eller membran med en porositet i intervallet 20 till 100 mikrometer och partikelstorlek på Matris av t.ex. 150 mikrometer eller i Matris i intervallet 100 - 250 mikrometer.

Fyllningen av Produkten i kolonnhuset kan ske på olika principiella sätt. Enligt uppfinningen kan Produkten exempelvis antingen först autoklaveras och därefter fyllas aseptiskt i kolonnhuset, eller som ett annat exempel, kan Produkten först fyllas i kolonnhuset och därefter autoklaveras kolonnhuset med Produkten.

Fackmannen väljer betingelserna för autoklaveringen och detta begränsar inte uppfinningens omfattning. Icke-begränsande exempel på autoklavering är behandling i autoklav av exempelvis mottryckstyp, som innefattar behandling under minst 20 minuter vid 120 grader Celcius eller högre och med exempelvis vattenånga.

Kolonnhus helt eller delvis fyllt med packat material enligt uppfinningen, kan till exempel vara konstruerat för att tillåta autoklavering och/eller exempelvis för att tillåta aseptisk packning av Materialet enligt uppfinningen. Icke-begränsande exempel på autoklaverbart kolonnhus är ett kolonnhus med två lock, båda försedda med t.ex. identiska gängor, vilka skruvas med hjälp av gängorna utanför och till båda ändarna av ett cylinderhus med till locken matchande gängor i de två

8.

ändarna av cylinderhuset. Mellan varje lock och cylinderhuset sätts ett poröst membran (dvs. totalt två membran) som kan släppa igenom plasma eller helblod men inte material enligt uppfinningen. Varje membran sätts mellan cylindern och varje lock exempelvis med hjälp av en ihålig silikonring av ungefär samma eller samma diameter som cylindern. Varje silikonring har exempelvis en skåra som tillåter inpassning av det cirkulära membranet i skåran i silikonringen. Membranet monteras i silikonringen och placeras mellan lock och cylinderände, varefter locket skruvas på cylindern och silikonringen med membranet försluts därmed mellan lock och cylinder. Samma sak görs för den andra änden av cylindern. Varje lock har ett centralt placerat hål med en upphöjning som tillåter montering av en biokompatibel och autoklaverbar slangats försedd med anslutningar av t.ex. Luertyp.

Istället för anslutning av locken till cylindern med hjälp av gängor, kan användas exempelvis en snäppmekanism, där t.ex. locken är försedda med en eller flera snäppen (t.ex. i varje lock finns 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, eller flera enskilda snäppen) och cylindern är försedd med från utsidan av cylindern en eller flera utskjutande kanter placerade en bit från toppen respektive botten av cylindern. Snäppena kan vara utskjutande från locken och kan exempelvis vara homogena, eller vart och ett vara försedda med en hålighet, för att tillåta större flexibilitet utan att brytas. På detta sätt kan silikonring med membran enligt ovan placeras mellan respektive lock och respektive cylinderände, varefter locket trycks på cylindern, snäppena trycks under de utskjutande kanterna på cylindern och fastnar där, och silikonringen med membranet försluts därmed mellan lock och cylinder.

För att kunna fylla de så monterade kolonnhusen med Materialet enligt uppfinningen, har cylinderdelen av kolonnhuset en cirkulär öppning med en upphöjning med gängor på utsidan av cylindern för att tillåta anslutning av en slang vid fyllning av materialet. Efter fyllning av materialet i kolonnhuset, sätts en biokompatibel plugg med exempelvis gängor som passar till gängorna på upphöjningen på cylindern. I centrum av pluggen finns en utskjutande tapp som passar inne i det cirkulära hålet på cylindern och som har en längd som motsvarar höjden på upphöjningen. På detta sätt uppnås en (nästan) slät yta inne i kolonnhuset vid den cirkulära öppningen.

9.

Alla nämnda komponenter av kolonnhuset i exempel med autoklaverbart kolonnhus, är autoklaverbara och biokompatibla. Lock, membran, cylinder, plugg, och slang med luerkoppling kan bestå av autoklaverbart och biokompatibelt plastmaterial.

Kolonnhus helt eller delvis fyllt med Material enligt uppfinningen och försett med ovan nämnt slutet slangset och plugg, kan autoklaveras. Detta underlättar enligt uppfinningen uppnående av sterilitet hos produkter erhållna enligt uppfinningen. Med tidigare metoder har steril (aseptisk) fyllning utförts vilket är svårt att uppnå.

Ink. t. Patent- och reg.verket

2000 -11- 2 4

Huvudfaxen Kassa

10.

Patentkrav.

1. Material karakteriserat av att materialet innehåller minst en biologiskt aktiv sackarid som är bunden kovalent via en spacer till tvärbunden matris.
2. Material enligt krav 1, som behandlats med autoklavering, **dvs autoklaverat Material.**
3. Material enligt krav 1, helt eller delvis fyllt i en autoklaverbar kolonn bestående av biokompatibla material.
4. Kolonn enligt krav 3 som behandlats med autoklavering, **dvs autoklaverad Kolonn.**
5. Användning av någon av produkterna nämnda i krav 1 - 4.

11.

Sammanfattning.

Material karakteriserat av att materialet innehåller minst en biologiskt aktiv sackarid som är kovalent bunden via minst en spacer till tvärbunden matris.

9
3
2
5
3
8
8